

## ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ НЕКОТОРЫХ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Никконен И.В., Ермошин А.А.

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н.

Ельцина, Екатеринбург, Россия

[virinikk@gmail.com](mailto:virinikk@gmail.com), [alexander.ermoshin@urfu.ru](mailto:alexander.ermoshin@urfu.ru)

**Аннотация.** В работе изучали биологическую активность водных и этанольных экстрактов семи видов съедобных базидиомицетов: *Armillaria spp.*, *A. borealis*, *Russula delica*, *Lactarius deliciosus*, *Cantharellus cibarius*, *Leccinum scabrum*, *L. aurantiacum*. Полученные экстракты изучали стандартными фармакогностическими методами. В ходе работы было установлено, что для выделения различных групп веществ подходят разные растворители. В этанол лучше экстрагируются аминокислоты, в воду – фенолы, флавоноиды и сахара.

**Ключевые слова:** базидиомицеты, биологически активные вещества, количественный состав, анализ, белки, углеводы, фенолы

## ISOLATION AND STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES FROM SOME HIGHER BASIDIAL FUNGI

Nikkonen I.V., Ermoshin A.A.

Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

**Abstract.** We studied the biological activity of water and ethanol extracts of basidiomycetes of the species *Armillaria spp.*, *A. borealis*, *Russula delica*, *Lactarius deliciosus*, *Cantharellus cibarius*, *Leccinum scabrum*, *L. aurantiacum*. Were used to study the isolated metabolites the recommended methods for determining the quantitative analysis. During the work, it was found that different solvents are suitable for different groups of substances. Amino acids are better extracted into ethanol, phenols, flavonoids and sugars into water.

**Key words:** basidiomycetes, biological active substances, quantitative composition, analysis, proteins, carbohydrates, phenols

**Введение.** На протяжении тысячелетий шляпочные и другие макроскопические грибы ценились не только в качестве пищи, но и использовались в народной медицине [1]. Сейчас ведется активное изучение высших базидиальных грибов с точки зрения их применения в фармации, так как они содержат широкий спектр биологически активных веществ, таких как белки, полисахариды, фенольные соединения, тритерпены, сесквитерпены и другие [2].

Прежде чем субстанция природного происхождения станет лекарственным препаратом, необходимо провести определение её качественного и количественного состава, определить *in vitro* биологическую активность и токсичность. В рамках данной статьи описаны лишь начальные этапы исследования съедобных грибов, как потенциального источника биологически активных веществ для медицины.

Показано, что у базидиомицетов биологически активные вещества содержатся не только в плодовых телах, но также в мицелии и культуральной жидкости [3]. В качестве объектов исследования были отобраны 7 видов шляпочных съедобных грибов, широко распространенных на Среднем Урале, легко определяемых и отличимых от других видов и активно собираемых населением в качестве пищевых продуктов.

**Материалы и методы.** В качестве объектов исследования использовали экстракты плодовых тел высших базидиальных грибов. Сбор плодовых тел грибов проводили в окрестностях города Красноуфимска в смешанных лесах и ельниках (Красноуфимский район Свердловской области, Россия) в августе 2020 г. Субстратом произрастания всех видов была древесина трухлявых пней (опята) и лесная почва.

Определение видовой принадлежности грибов проводили на основании морфологических признаков плодовых тел, а также на основании их местообитаний по тезисному определителю Л. Г. Переведенцевой и по иллюстрированным атласам-определителям П. Янсена и А. Романовой и А. Булатовой.

В работе использовали среднюю пробу, полученную из 5–15 плодовых тел, собранных в нескольких местообитаниях. Грибы предварительно очищали, замораживали, после высушивали до постоянной массы при диапазоне температур 25 и 70 °С, после чего гомогенизировали и использовали в работе.

Рабочая концентрация водных и этанольных экстрактов составляла 10 мг сухой биомассы на 1 мл экстрагента.

Для определения содержания свободных аминокислот использовали реакцию с нингидрином, сахаров – антроновый метод Дрейвуда, фенольных соединений – фотоколориметрический метод Фолина-Чикольте, флавоноидов – метод дифференциальной спектрофотометрии по реакции комплексообразования с хлоридом алюминия [4]. Расчет проведен для аминокислот – на глицин, сахаров – на глюкозу, фенолов – на галловую кислоту, флавоноидов – на рутин.

Количество свободных аминокислот, сахаров, фенолов и флавоноидов определяли спектрофотометрически на микропланшетном спектрофотометре Infiniti M 200 Pro (Tecan, Австрия).

Анализы проводили в 4 аналитических повторностях. Статистическую обработку результатов проводили с помощью вычислений средних значений и ошибки среднего ( $M \pm m$ ) с использованием пакета программ для статистической обработки Microsoft Excel. Достоверность отличий определяли по непараметрическому U-критерию Мана-Уитни с использованием программных пакетов Statistica 8.0. Статистически значимым принимался уровень  $p < 0,05$ . На гистограммах и в таблицах значения представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего.

**Результаты и их обсуждение.** Биологическая активность грибов обусловлена, прежде всего, веществами, которые в них содержатся. Из литературных данных известно, что такие вещества первичного обмена, как белки и сахара, могут обладать биологической активностью наравне с веществами вторичного обмена [2]. Поэтому для нас интерес представляют в рамках данной работы не только вторичные метаболиты, известные своей биоактивностью, но и первичные.

Так, в зависимости от растворителя количественное содержание веществ с аминогруппами сильно отличается: вещества, содержащие свободные аминогруппы в этанольных экстрактах, преобладают над содержанием в водных экстрактах во всех семи видах исследуемых грибов (см. рисунок 1).

Грибом сравнения служила чага (*Inonotus obliquus*), богатая на вещества вторичного обмена и используемая как в народной, так и в официальной медицине. Исходя из полученных данных, видно, что такие виды, как *Armillaria borealis*, *Russula delica*, *Lactarius deliciosus* и *Leccinum aurantiacum* наиболее богаты на свободные спирторастворимые аминокислоты: их содержание оценивалось в экспериментах от 43 до 68 мг/г сухого вещества гриба.

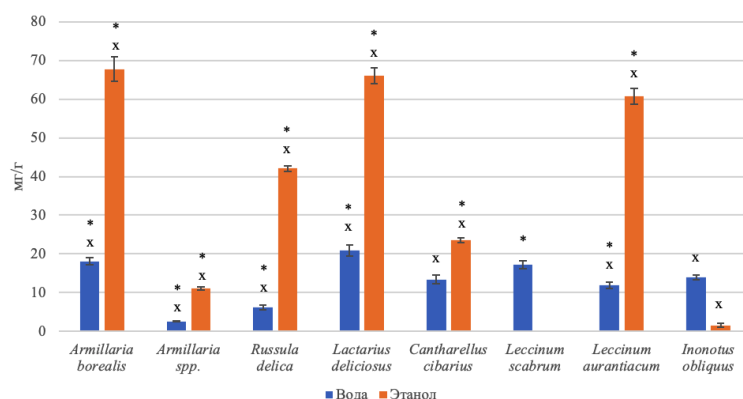


Рисунок 1 – Суммарное содержание аминокислот в водных и этанольных экстрактах базидиокарпов. Примечание – <sup>x</sup> – отличие между содержанием компонента в этаноле и воде достоверно при  $p < 0,05$ ; \* – отличие от чаги (*Inonotus obliquus*) достоверно при  $p < 0,05$ )

В целом, полученные результаты о содержании свободных аминокислот варьируются от 2 до 68 мг/г в зависимости от вида исследуемого гриба, что вполне свидетельствует о большой питательной ценности, а также о возможной биологической активности.

В тестах на определение содержания гексоз в водных и этанольных грибных экстрактах для четырех видов *Armillaria borealis*, *Russula delica*, *Lactarius deliciosus* и *Leccinum aurantiacum* наблюдался большой выход гексоз в воде в сравнении с этанолом (см. рисунок 2). Если при анализе аминокислот, спиртовые экстракты всех видов содержали больше аминокислот, чем водные, то для углеводов такой четкой картины не обнаружено. Содержание сахаров имело тот же порядок, что и свободных аминокислот.

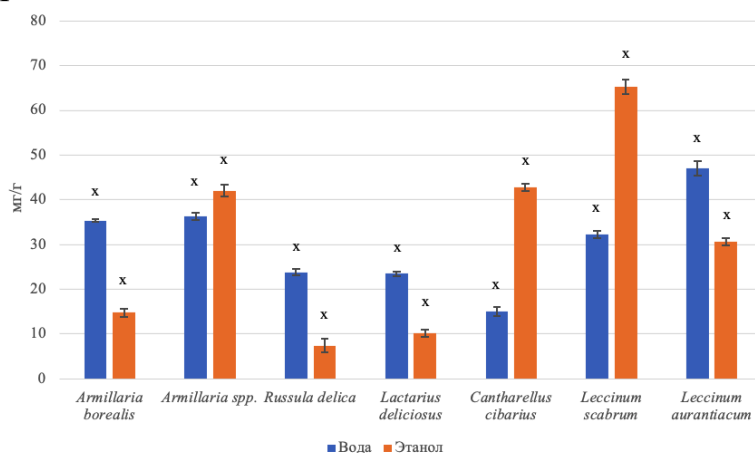


Рисунок 2 – Суммарное содержание гексоз в водных и спиртовых экстрактах базидиокарпов. Примечание – <sup>x</sup> – отличие между содержанием компонента в этаноле и воде достоверно при  $p < 0,05$ ; \* – отличие от чаги (*Inonotus obliquus*) достоверно при  $p < 0,05$ )

Из литературных данных известно, что высшим базидиальным грибам характерно содержание таких сахаров, как глюкоза, манноза, галактоза и трегалоза [1]. Возможно, что именно мономеры этих сахаров и были обнаружены при проведении количественного анализа.

Анализ суммарного содержания фенольных соединений в водных и этанольных экстрактах базидиокарпов исследуемых грибов показал, что в водный растворитель характерен больший выход фенольных соединений, чем при экстракции в этанол, для всех видов исследуемых грибов (см. рисунок 3). При чем, содержание фенолов в этанольных образцах статистически достоверно ниже, чем в водных образцах (см. рисунок 3).

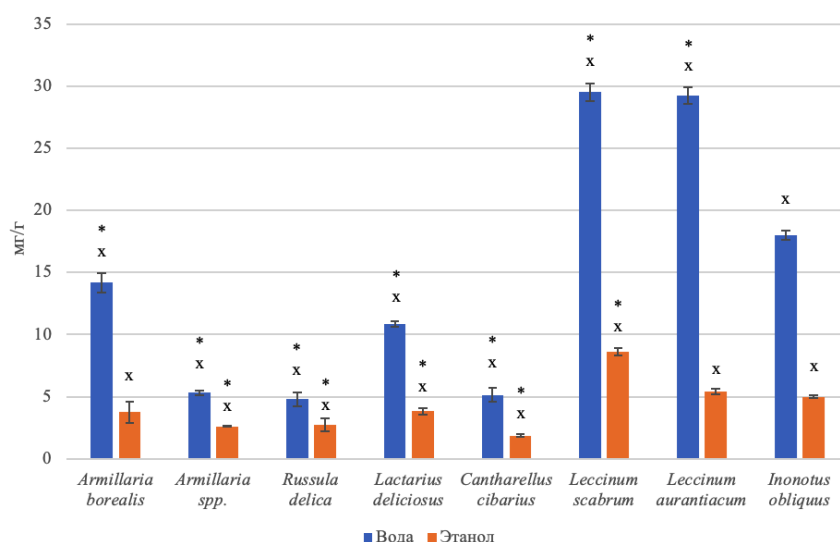


Рисунок 3 – Суммарное содержание фенольных соединений в водных и спиртовых экстрактах базидиокарпов. Примечание – <sup>x</sup> – отличие между содержанием компонента в этаноле и воде достоверно при  $p < 0,05$ , \* – отличие от чаги (*Inonotus obliquus*) достоверно при  $p < 0,05$

Исходя из данного анализа, можно предположить, что водные экстракты исследуемых образцов грибов должны обладать большей антиоксидантной активностью, так как фенольные соединения являются более сильными восстановителями, в сравнении с веществами белковой или углеводной природы. Соответственно, следует ожидать, что именно водные экстракты данных видов грибов проявляют высокую антиоксидантную активность в соответствующих тестах.

Флавоноиды широко распространены в растительном царстве, в грибах же они встречаются гораздо реже и в значительно меньшем количестве. Они, как и фенолы, проявляют высокую антиоксидантную активность. Согласно результатам количественного анализа на флавоноиды, они, в сравнении с чагой, практически не содержатся в исследуемых экстрактах грибов, либо содержатся, но в малых количествах (таблица). Наиболее значимые результаты по содержанию флавоноидов показали водные экстракты *Armillaria borealis*, *Leccinum scabrum* и в особенности *Leccinum aurantiacum*. Но эти результаты не сравнимы с количественным содержанием флавоноидов в водном экстракте чаги (таблица).

Таблица – Количественное содержание флавоноидов в грибах при использовании различных растворителей

Вид гриба	Флавоноиды, мкг/г	
Растворитель	Вода	Этанол

<i>Armillaria borealis</i>	9,4±0,8 <sup>x*</sup>	0,1±0,9 <sup>x*</sup>
<i>Armillaria spp.</i>	1,0±0,2 <sup>*</sup>	0,8±0,0 <sup>*</sup>
<i>Russula delica</i>	2,0±0,6 <sup>*</sup>	0,0±0,5 <sup>*</sup>
<i>Lactarius deliciosus</i>	4,5±0,2 <sup>x*</sup>	2,0±0,3 <sup>x*</sup>
<i>Cantharellus cibarius</i>	0,3±0,6 <sup>*</sup>	0,1±0,1 <sup>*</sup>
<i>Leccinum scabrum</i>	14,2±0,7 <sup>x*</sup>	1,2±0,3 <sup>x*</sup>
<i>Leccinum aurantiacum</i>	34,1±0,7 <sup>x*</sup>	0,7±0,2 <sup>x*</sup>
<i>Inonotus obliquus</i>	165,9±8,3 <sup>x</sup>	31,8±3,0 <sup>x</sup>

Примечание – <sup>x</sup> – отличие между содержанием компонента в этаноле и воде достоверно при  $p < 0,05$ , \* – отличие от чаги (*Inonotus obliquus*) достоверно при  $p < 0,05$

Полученные результаты количественных анализов на выбранные группы веществ могут свидетельствовать о высокой биологической активности исследуемых видов грибов. Для уточнения, какой именно активностью они обладают, необходимы дополнительные эксперименты. Можно лишь предполагать, что исследуемые водные экстракты грибов обладают высокой антиоксидантной активностью, в то время как спиртовые экстракты исследуемых видов грибов также могут обладать иной биоактивностью, исходя из высокого содержания в них свободных аминокислот.

**Выводы.** На основании проведенных количественных анализов можно сделать следующие выводы: для выделения ряда веществ из высших съедобных грибов подходят как водная, так и этанольная экстракция. Для лучшего выделения аминокислот подходит этанол. Для выделения сахаров, фенолов и флавоноидов лучшим растворителем является вода.

Также можно говорить о различном химическом составе исследуемых видов грибов, относящихся не только к разным родам, но и семействам высших базидиальных грибов. Данные виды еще сравнительно мало изучены, но поскольку именно эти виды грибы зачастую оказываются из года в год в корзинах грибников, то представляют интерес не только для обывателя, но и для науки.

### Библиографический список

1. Вассер С. П. Наука о лекарственных шляпочных грибах: современные перспективы, достижения, доказательства и вызовы // Биосфера. – 2015. – №2. – С. 238–248.
2. Сакович В. В., Жерносеков Д. Д. Базидиомицеты как источники биологически активных веществ // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. – 2018. – Т. 1. – С. 3–13.

3. Alves M. J., Isabel C. F. R. Ferreira, Dias J., Teixeira V., Martins A., Pintado M. A Review on Antimicrobial Activity of Mushroom (Basidiomycetes) Extracts and Isolated Compounds // *Planta Med.* – 2012. – V. 78, №16. – P. 1707–1718.
4. Ermoshin A.A., Kiseleva I.S., Nikkonen I.V., Nsengiyumva D.S., Shen Duan, Chaomei Ma, Kurchenko V.P. Antioxidant activity and chemical composition of extracts from fruiting bodies of xylotrophic fungi growing on birch // *Journal of Siberian Federal University. Biology.* – 2021. – 14(3). – P. 339–353.